

(Aus dem Institut für Krebsforschung, Hamburg-Eppendorf [Leiter: Privatdozent Dr. R. Bierich].)

Über die Beteiligung des Bindegewebes bei der experimentellen Krebsbildung.

Von
Dr. R. Bierich.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. März 1922.)

Die spezifischen Eigenschaften jeder protoplasmatischen Bildung sind offenbar gegeben in einer bestimmten Zusammensetzung und Anordnung reaktionsfähiger Gruppen, an denen der Reaktionsablauf unter *normalen physiologischen Bedingungen* vollkommen gesetzmäßig erfolgt¹⁾. Durch die zwei Faktoren: die bestimmte physikalisch-chemische Zusammensetzung des Zellprotoplasmas und die bestimmte Zusammensetzung der Umgebung, erscheint der jedesmalige Typus und damit die Funktionen des betreffenden protoplasmatischen Systems grundsätzlich garantiert. Die Eigenschaften des Protoplasma sind also nicht unabänderlich definiert, sondern sind, wie jedes chemische Gleichgewicht, wandelbar und abhängig von den physikalischen und chemischen Bedingungen der Umgebung.

Werden die äußeren Bedingungen durch Zufuhr gewebsfremder, physikalisch-chemisch wirksamer Faktoren abgeändert, so erscheint es verständlich, daß diese Faktoren die Zusammensetzung und die räumliche Anordnung der reaktionsfähigen Gruppen in dem Sinne beeinflussen müssen, daß ein neuer, von dem früheren verschiedener Reaktionsablauf eintritt. Es wird dabei offenbar von den qualitativen und quantitativen Eigenschaften des gewebsfremden Faktors und von der jedesmaligen spezifischen Struktur des betreffenden Protoplasma abhängen, welche physikalischen und chemischen Veränderungen in ihm auftreten. Ob und wieweit sich dabei eine Funktionsänderung nachweisen läßt, ist eine Frage der geeigneten Untersuchungsmethoden. Wenn nun bei chronischer, lokaler Einwirkung bestimmter, gewebsfremder Energiearten auf ein normales Gewebe in diesem an der entsprechenden Zufuhrstelle pathologisches Wachstum in Form von

¹⁾ H. Freundlich, Naturw. 45. 1919.

Krebsbildung auftritt, so läßt sich dieses als gesetzmäßige Reaktion des normalen Gewebes auf die gewebsfremde Energie auffassen. — Um diese These auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen, galt es nun zunächst die wirksamen Faktoren zu isolieren. Hierfür schienen am geeignetsten die Teercarcinome der weißen Maus; für diese war also der Nachweis zu erbringen, welche Teilfraktionen des Steinkohlenteers ihre Entstehung bedingen. Über das Resultat unserer Untersuchungen dieser ersten *Frage* liegen zurzeit noch nicht endgültige Befunde vor, weil sich die Bestimmung der einzelnen Teilfraktionen zeitraubender, als angenommen war, erwies. Die zweite *Frage*, die sich ergab: welche Gewebe an der Krebsbildung beteiligt sind und welche Vorgänge sich in ihnen dabei abspielen, wurde in folgender Weise in Angriff genommen:

Maßgebend für den spezifischen Effekt des Teers am Erfolgsort sind 1. die Konzentration und 2. die chemische Affinität der wirksamen Teilfraktion zu bestimmten Reaktionsgruppen des Protoplasmas. Die höchste Konzentration und die von einer solchen abhängigen Reaktionen waren vor allem am Epithel zu erwarten, als dem Orte der beständigen Zufuhr zum Organismus. Die chemische Affinität der wirksamen Fraktion mußte sich aber, nach unserer Auffassung der Reaktionsweise, auch auf ihrem weiteren Weg durch den Organismus¹⁾ an den verschiedenen passierten Gewebssystemen verschieden stark äußern. Danach war zu erwarten, daß die Krebsbildung nicht uneingeschränkt von der Reaktion am 1. Wirkungsort — also der pathologischen Wachstumssteigerung des Epithels — beherrscht wird, sondern daß die anderen Gewebssysteme, die mit dem gewebsfremden Faktor reagieren, sie ebenfalls — direkt oder indirekt — beeinflussen mußten. Es braucht hier nicht wiederholt zu werden, daß die Funktionen der anderen Gewebssysteme sich — entsprechend ihrer spezifischen Struktur — in gänzlich von der Wachstumsfunktion abweichenden Erscheinungen zeigen konnten bzw. falls solche nachweisbar waren, zeigen mußten. Wir suchten nun die eben gegebene Auffassung von der Wirkungsweise der krebsbildenden Faktoren durch die folgenden Untersuchungen experimentell zu belegen.

Nach unseren früheren¹⁾ und den weiter fortgesetzten Beobachtungen lassen sich die *morphologischen Befunde* beim Teerkrebs der weißen Maus folgendermaßen zusammenfassen:

Von den Bestandteilen des Teers waren bisher nur die unlöslichen, anorganischen nachweisbar. Im Epithel finden sie sich im Stratum cylindricum der weißen Ratte — auffallenderweise nicht der weißen Maus — als feingranulierter, perinuklearer Niederschlag. Im Corium liegen die feingranulierten, unregelmäßig geformten Teerpartikel zum

¹⁾ R. Bierich, Zeitschr. f. Krebsforsch. 18, 3. 1921.

Teil im geformten Bindegewebe (oft in den Knotenpunkten seines Netzes), zum Teil in der Grundsubstanz. Sie sind häufig umgeben von zahlreichen hämosiderinhaltigen Histiocyten und von großen Wanderzellen des Bindegewebes. Die löslichen, organischen Teilfraktionen des Teers konnten bisher im Gewebe nicht nachgewiesen werden.

Der von uns benutzte Teer enthält, wie a. a. O. berichtet wurde, kein Arsen:

Unter der Teerwirkung treten — wie nach den weiter fortgesetzten Beobachtungen richtigzustellen ist — zuerst Höhenwachstum: Hyper-

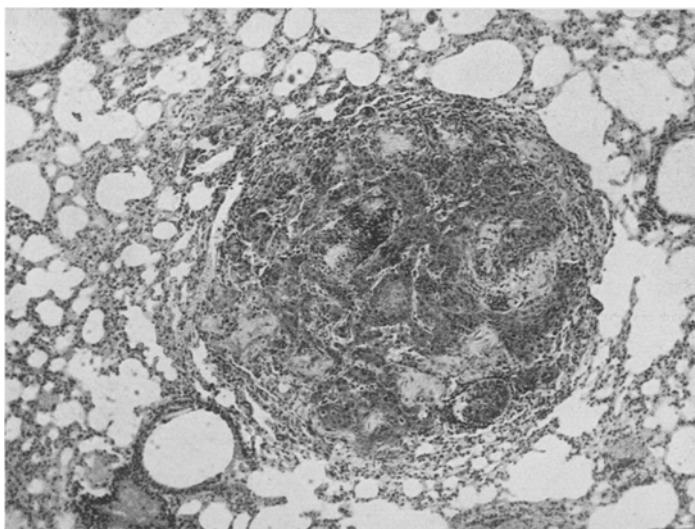


Abb. 1. Teercarcinom. Metastase in der Lunge.

keratosen durchschnittlich nach 40 Tagen, Papillome nach 80 Tagen, Tiefenwachstum (Carcinome) durchschnittlich nach 131,5 Tagen, vom Beginn der Behandlung ab, auf.

Die Neubildung ist eine bösartige, denn sie wuchert in das benachbarte Bindegewebe, in die Muskulatur ein, führt zu Metastasen in Lymphknoten und Lunge (Abb. 1).

Meist sind die Tumoren Cancroide (Abb. 2), in selteneren Fällen entsteht ein Carcinoma solidum, in einem Fall erhielten wir sarkomatiges Wachstum einzelner Abschnitte des Carcinoms (Abb. 3). Die Primärtumoren lassen sich meist ohne Schwierigkeiten transplantieren, wobei es oft zu einer Verzögerung ihres Angehens kommt. Die meisten Transplantate halten sich nur durch 2—3 Passagen, eines wurde von uns bis jetzt 13 mal mit gleichem positiven Erfolg fortgezüchtet. Es gelingt bei Verpflanzung geeigneter Partien aus Carcinomen, die sarkom-

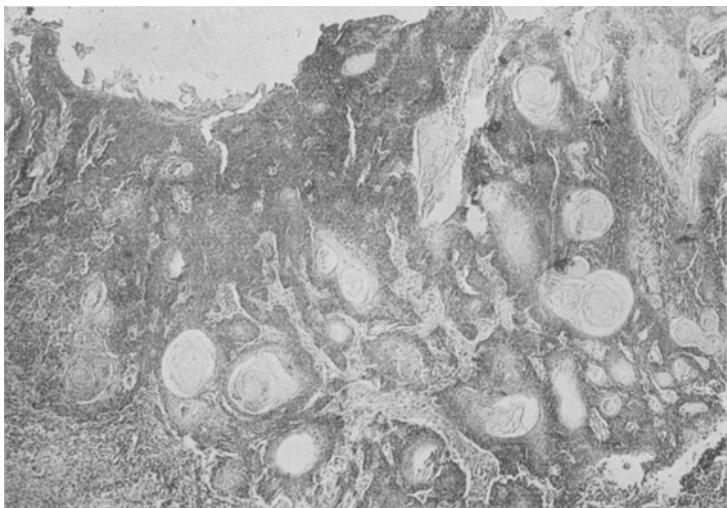


Abb. 2. Teercancroid.

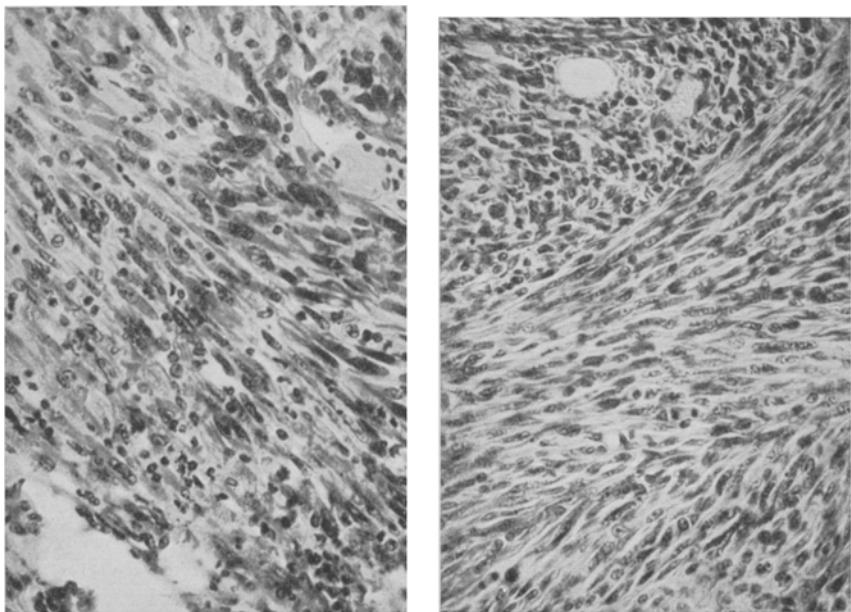


Abb. 3. Teercancroid mit sarkomatigem Wachstum. Abb. 4. Isolierte, sarkomatig wachsende Partie.

artiges Wachstum zeigen, diese Komponente zu isolieren (Abb. 4). Primäre Sarkome wurden von mir bisher nicht erhalten.

Die eben beschriebenen, unseren Beobachtungen nach morphologisch und zeitlich gesetzmäßig auftretenden Veränderungen der Haut bei der Teerkrebsbildung benutzten wir als Basis der nachfolgenden Versuche.

Auf Grund von Literaturangaben, die in den folgenden Abschnitten mitzuteilen sind, wird angenommen, daß Arsen, Milchsäure und Röntgenstrahlen bestimmte physiologische oder pathologische Wachstumsprozesse steigern bzw. hemmen. Es ist weiter bekannt, daß Arsen und Röntgenstrahlen — bei chronischer Einwirkung auf die Haut — hier zur Bildung primärer bösartiger Geschwülste führen können.

Untersucht man zuerst die isolierte Wirkung dieser Faktoren auf die Gewebe der Haut, so ergibt sich, daß die von Arsen und Röntgenstrahlen — unter der von uns gewählten Dosierung — der Teerwirkung qualitativ zu entsprechen scheint; quantitativ war die Wirkung beider untereinander und gegenüber dem Teer verschieden.

Da Arsen und Röntgenstrahlen gut dosierbar sind, schien es möglich, aus ihrer dosierten Wirkung einen quantitativen Maßstab im Vergleich zu der Teerwirkung zu gewinnen.

Arsenwirkung.

Die Wirkung chronischer Zufuhr minimaler Mengen arseniger Säure auf Wachstum und Stoffwechsel neugeborener und erwachsener Tiere ist bekannt. Wir gingen von der Angabe aus¹⁾, daß neugeborene Kaninchen — die ein Durchschnittsgewicht von 50—60 g haben — nach 4 wöchiger täglicher Zufuhr von 0,5 mg. As₂O₃ Gewichtszunahme, gesteigertes Längen- und Breitenwachstum der Knochen, glänzendes Fell und Zunahme des panniculus adiposus zeigten. Hiernach war jedenfalls anzunehmen, daß diese Dosierung auf die Kaninchen nicht toxisch gewirkt hatte. Sie konnte daher, nach Umrechnung auf das Gewicht von weißen, zudem noch erwachsenen Mäusen (2,5 : 1), scheinbar unbedenklich übernommen werden. Vorsichtshalber gingen wir auf 0,1 mg p. d. zurück. Von 14 bisher mit dieser Dosis täglich behandelten Tieren gingen 2 nach 30 Tagen ein, die übrigen lebten bis zu 138 bzw. 196 Tagen. Makroskopisch wurde bei unseren Tieren dabei weder Gewichtszunahme oder Abnahme noch die aus den obenerwähnten und anderen Versuchen bekannten Symptome der assimilationssteigernden Arsenwirkung beobachtet. Mikroskopisch wurde eine geringe Hyperplasie des Epithels (5—10- statt 2 schichtig) und am Bindegewebe eine starke Auflockerung der Grundsubstanz, Quellung der Fibrillen, starke quantitative Zunahme der Mastzellen und übrigen Bindegewebzellen sowie der elastischen Fasern nachgewiesen (Abb. 5). Hyperkeratosen, Bil-

¹⁾ Gottlieb-Meyer, Lehrb. d. experim. Pharmak. 1920, S. 464.

dung benigner oder maligner Tumoren wurden bis zum 196. Tag in keinem Falle beobachtet.

Bei der *kombinierten* Behandlung: zuerst 26 Tage mit Arsen und danach mit Teer und Arsen gleichzeitig (32 Tiere), trat, wie die Tabelle zeigt, eine deutliche Verzögerung im Auftreten des „benignen“ Höhenwachstums wie des „malignen“ Tiefenwachstums ein.

Abb. 5. Starke Zunahme der elast. Fasern und der Mastzellen im subepithelialen Bindegewebe nach 196 Tage langer subcutaner Zufuhr von Arsen.

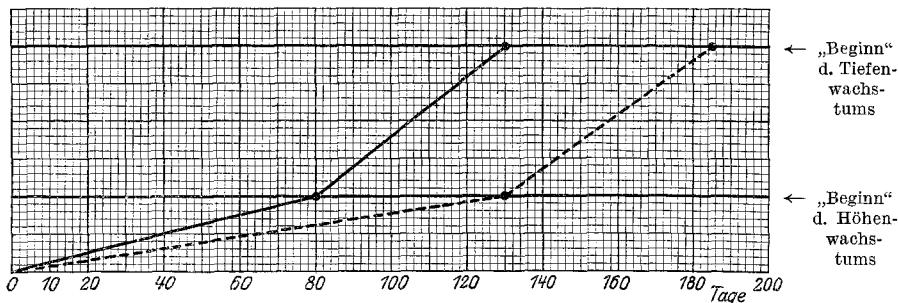


Abb. 6. Ausgezogene Linie: — = Teer.
Gestrichelte Linie: - - - = Teer und Arsen.

Die mikroskopischen Veränderungen am Entstehungsort der Neubildung waren folgende: Man findet im ganzen Wirkungsbereich des Teers, besonders an solchen Stellen, wo das Epithel als schmaler, fingerförmiger Fortsatz in das Bindegewebe vordringt, und wo diese Epithelzapfen die bereits früher¹⁾ beschriebenen 4—8 schichtigen Kappen aus quergelagerten chromatinreichen Zellen tragen, eine auffallend starke Zunahme der elastischen Fasern, der Mastzellen und meist auch der übrigen Bindegewebszellen. Die Grundsubstanz und das geformte Bindegewebe ist wiederum — wie unter der isolierten Arsenwirkung — aufgelockert und gequollen.

¹⁾ R. Bierich, Zeitschr. f. Krebsforsch. 18, 3. 1921.

Man könnte nun, trotz der scheinbaren Zulässigkeit unserer Arsen-dosierung, auf Grund des frühen Eingehens einiger Tiere annehmen, daß diese Dosis für weiße Mäuse die Grenze der toxischen Wirkung erreicht oder überschritten hat; es müßte sich dann um Konzentrationen gehandelt haben, bei denen nicht die „Assimilation“, sondern die „Dissimilation“¹⁾ in den Geweben gesteigert war. Das könnte einen Teil unserer Beobachtungen: die allgemeine, äußerlich konstatierte Hemmung der Geschwulstbildung, zur Not erklären, wenn auch hiergegen die bei der isolierten Arsenwirkung konstatierte Hyperplasie des Epithels spräche. Diese Auffassung erklärt aber keineswegs den mikroskopischen Befund am Bindegewebe, der — wie später gezeigt werden wird — nicht als „Dissimulationserscheinung“ aufgefaßt werden kann.

Eine andere Überlegung führt hier weiter: Falls Arsen, als von außen zugeführter, gewebsfremder Faktor, mit verschiedenen Geweben in Reaktion tritt, muß das Resultat der Reaktion abhängig sein von der jedesmaligen spezifischen physikalischen Struktur bzw. der chemischen Konstitution ihres Protoplasmas. Man müßte also erwarten, daß *Arsen am Epithel anders reagieren und „wirken“ wird als am Bindegewebe*, weil es an jedem dieser protoplasmatischen Systeme nur Änderungen hervorrufen kann, die im Rahmen seiner „Struktur“ gegeben sind. Dieselbe äußere Bedingung macht demnach verschiedene und jedesmal spezifische Veränderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften des einen und des anderen Objekts und damit ebenfalls gesetzmäßige Änderungen von dessen Funktion. Die Reaktion wird zudem noch in quantitativer und qualitativer Hinsicht beeinflußt sein von der Konzentration des wirksamen Faktors am Ort, die wiederum mit dessen Affinitäten zu bestimmten Eigenschaften des Reaktionsmilieus wechseln muß. Wir konnten feststellen, daß die isolierte Arsenwirkung im Bindegewebe offenbar zu denselben formalen Veränderungen führt, die im I. Stadium der Teerkrebsbildung auftreten. Es wäre nun gut vorstellbar, daß sich bei gleichzeitiger Zufuhr beider Faktoren diese zwei am Bindegewebe scheinbar gleichgerichteten Wirkungen summieren und zu einer Steigerung der Einzelwirkung führen. Die Verzögerung der Krebsbildung — also der Epitheleinwucherung in das Bindegewebe — wäre damit zurückzuführen auf eine „Reaktionssteigerung“ des Bindegewebes.

In der zitierten früheren Arbeit²⁾ über die histologischen Veränderungen bei Teerkrebs, hatte ich den Befund auffallend zahlreicher großer Wanderzellen (Mastzellen) im Bindegewebe seiner nächsten Umgebung festgestellt. Es wurde damals — nach Lokalisation und färbe-

¹⁾ Meyer-Gottlieb, Lehrb. d. Pharmak. 1921. S. 464.

²⁾ R. Bierich, Zeitschr. f. Krebsforsch. 18, 3. 1921.

rischem Verhalten dieser Zellen — angenommen, daß sie Abkömmlinge der adventitiellen Gefäßwandzellen — im Sinne *Marchands*¹⁾ — sind. Untersucht man ihre quantitativen Verhältnisse im Bindegewebe unter experimentellen Bedingungen, die nach der Art ihrer wirksamen Energien offenbar von der Teerwirkung verschieden sind, so erscheinen sie bei derselben Tierart abhängig von noch unbekannten Eigenschaften dieser Faktoren. Sie sind z. B. bei der Maus am spärlichsten nach Arsen (Abb. 5), wesentlich reichlicher nach Röntgenstrahlen (Abb. 8, 9), am zahlreichsten nach Teer (Abb. 7). Bei der Ratte sind sie — schon unter normalen Verhältnissen — spärlicher als bei der Maus

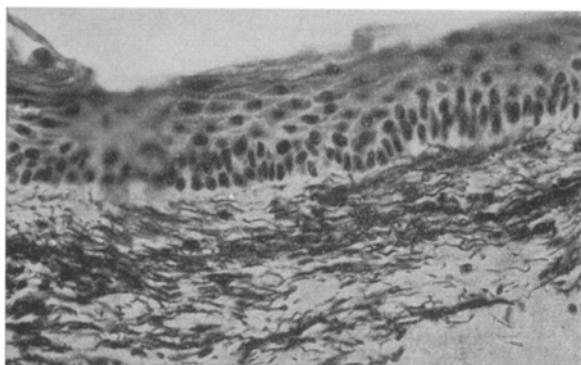


Abb. 7. Mastzellen bei Teercancroid.

und noch seltener beim Menschen. Allem Anschein nach wird also das Auftreten dieser Zellen bei derselben Art in erster Linie durch den von außen zugeführten Faktor bestimmt und erst in zweiter Linie kommen für die quantitativen Verhältnisse artgemäße Bedingungen in Betracht. Es läßt sich nun nachweisen, daß auch eine zweite von uns untersuchte Komponente des Bindegewebes — die elastischen Fasern — sich unter den gleichen Bedingungen analog verhält. Zum Nachweis der elastischen Fasern wurde — neben der *Unna-Tänzerschen* Orceinmethode — die *Weigertsche Resorcinfuchsinfärbung*, zum Nachweis der kollagenen Fasern die *Mallorysche Säurefuchsinfärbung* benutzt. Die *Achucarro-Ranckesche Silberimprägnierung* wurde bei diesen Untersuchungen nur selten hinzugezogen. Bemerkenswert ist, daß die großen Wanderzellen sich gegenüber den beiden „spezifischen“ Elastinnachweismethoden verschieden verhielten.

Die Wanderzellen zeigen bei der Resorcinfuchsinfärbung in ihrem Protoplasma ein unregelmäßiges, feinkalibriges, schwammartiges Gerüst, das sich — wie die

¹⁾ *F. Marchand*, Verhandl. d. dtsh. path. Ges. **5**. 1913 u. Handb. d. allg. Pathol. **1**. 1908. *G. Herzog*, Zieglers Beiträge **61**, 325—450. 1916.

elastischen Fasern — tiefdunkelblau färbt. Von diesem intracellulären, schwammartig zusammenhängenden Netzwerk scheinen — in einigen Fällen — freiendende Fortsätze abzugehen, was im Sinne Heidenhains¹⁾, Loisels²⁾ u. a. für eine intracelluläre Bildung der elastischen Fasern spräche. Dieser Befund erschien erwähnenswert, wenn auch die Histogenese der elastischen Fasern — nach unseren Beobachtungen — auf einem anderen Weg erfolgt. Bei Orceinfärbung des gleichen Präparats werden die großen Wanderzellen nicht gefärbt. Eventuell ist diese Unstimmigkeit beider Färbemethoden durch die minderwertige Qualität unserer heutigen Farbstoffe bedingt. Wir müßten sonst annehmen, daß eine dieser beiden Methoden für den Elastinnachweis nicht „spezifisch“ ist.

Milchsäurewirkung.

Nach der Mitteilung Muchs³⁾ können apathogene Mikroorganismen bei gleichzeitiger Zufuhr von Milchsäure für den Organismus pathogen werden. *Much* faßte diesen Vorgang als *primäre „Virulenzsteigerung“* auf und wir haben versucht, auf Grund dieser Vorstellung das Wachstum transplantabler Tumoren von weißen Mäusen (*Teercancroide*, *Keyssers Carcinosarkom*) durch ein- oder mehrmalige parenterale Zufuhr von Milchsäure zu steigern. Diese Versuche waren bisher negativ. Nach der später erfolgten Mitteilung Rostocks⁴⁾ gelang es diesem — unter qualitativ gleichen Bedingungen wie den von uns befolgten —, nur mit einer 5 mal größeren Dosis, fast ausnahmslos eine „Virulenzsteigerung“ (schnelleres Angehen, Metastasierung in Lunge und Lymphknoten) zu erzielen. Unter Anwendung dieser hohen Dosierung (entsprechend 17,5 g Milchsäure für einen Menschen von 70 kg!) und mit demselben Tumorstamm, den wir von Herrn *Rostock* in dankenswerter Weise erhielten, waren unsere weiteren Versuche jedoch ebenfalls negativ.

Es war nun ebensogut möglich, daß die Virulenzsteigerung in den Versuchen *Rostocks indirekt* durch eine Allgemeinschädigung (Acidose) zustande gekommen ist, und wir untersuchten daher erstens, ob sich eine solche bei *isolierter Milchsäurewirkung* eventuell im normalen Gewebe morphologisch nachweisen läßt; zweitens, ob bei der experimentellen Teerkrebsbildung durch Milchsäure im Tumorgewebe oder in dessen nächster Umgebung sich morphologische Veränderungen (Zerstörung oder Abnahme der elastischen Fasern) konstatieren ließen, die das Zustandekommen der „Virulenzsteigerung“ erklären könnten.

Behandelt man entparaffinierte Gewebsschnitte 5—75 Minuten lang mit 0,1—10 proz. Milchsäure, so zeigen die elastischen Fasern solcher Gewebe keine quantitativen oder qualitativen Veränderungen. Nach Behandlung lebender Tiere, die 8 Tage lang täglich subcutan oder intraperitoneal 0,2 ccm

¹⁾ *M. Heidenhain*, Plasma und Zelle. Jena 1907/11.

²⁾ *Loisel*, Arch. de l'anat. 1908, zit. nach *Rohde*. Vortr. u. Aufsätze a. d. Geb. d. Entwicklungsmech. **20**.

³⁾ *H. Much*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 22.

⁴⁾ *P. Rostock*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 44.

einer 0,1 bzw. einer 0,5 proz. Lösung erhalten hatten, wurden — bis auf eine starke Leukocytose um den Stichkanal — keine morphologischen Veränderungen der elastischen Fasern bemerkt. Der gleiche negative Befund wurde an weißen Ratten erhoben. Wir haben schließlich 10 weiße Mäuse 90 Tage lang mit Teer vorbehandelt und von da ab 5 Tieren 1 mal wöchentlich, 5 Tieren 2 mal wöchentlich bei fortlaufender Teerpinselung 0,5 ccm 0,5 proz. Milchsäure gegeben. Weder die Bildung der Hyperkeratosen noch die der Papillome wurde dabei zeitlich oder in ihrer Intensität nachweisbar beeinflußt; dasselbe gilt scheinbar für die zurzeit noch nicht abgeschlossene Beobachtungen über die Krebsbildung (zusammen 79 Tiere). Es ergab sich also mit Milchsäure *weder eine Virulenzsteigerung transplantiert Tumoren noch eine beschleunigte Bildung experimentell erzeugter Tumoren.* Eine Veränderung der morphologischen Struktur des Bindegewebes normaler Tiere durch parenterale Zufuhr von Milchsäure konnte nicht nachgewiesen werden.

Wirkung der Röntgenstrahlen.

Die Tiere wurden zum allergrößten Teil ohne Filter und ohne Bleischutz mit steigenden Dosen von 5' bis zu 4 Stunden bestrahlt. Bei allen Tieren lassen sich etwa 6 Stunden nach der Bestrahlung die Haare auf leichten Zug entfernen. Hatte die Bestrahlung 60' und länger gedauert, so wurde das Fell nach etwa 4 Tagen struppig. Bei 2 Tieren, die 5' bestrahlt waren, trat am 10. bzw. 13. Tag ein diffuses Gesichtsödem auf, bei einem Tier nach 30' langer Bestrahlung nach 5 Tagen. Diese Tiere gingen einmal am selben Tage, die anderen Male nach 6 bzw. 2 Tagen unter Ausbreitung des Ödems über den ganzen Körper zugrunde. Ohne äußerlich nachweisbare Veränderungen starben von 15 Tieren, die 30' bestrahlt waren, 1 nach 4 Tagen, die anderen nach 5 bzw. 7 Tagen, von 15 Tieren, die 60' bestrahlt waren, starben 3 am 5. Tag, von 12 Tieren, die 120' bestrahlt waren, 1 am 3., 1 am 4., 1 am 5. Tag, von 12 Tieren, die 240' bestrahlt waren, starben 3 sofort nach der Bestrahlung, 3 nach 3 bzw. 4 Tagen.

Diese Resultate besagen, daß mit der Intensität der Bestrahlung die Schädigungen zunehmen und daß die letale Schädigung durchschnittlich bei 30' langer Bestrahlung beginnt, aber auch weit unterhalb dieser Dosis (5') eintreten kann.

Im Vergleich zu diesen Schädigungen des *ganzen Organismus*, die auf die bekannten Schädigungen der einzelnen Organe zurückgehen, erscheint die behaarte *Haut* der Tiere gegenüber der Strahlenwirkung erheblich resistenter. Auch nach 4 Stunden langer Bestrahlung ließ sich keine der graduellen Schädigungen, wie sie an der menschlichen Haut beobachtet werden, feststellen. Die histologischen Veränderungen sind an einer weiteren Stelle besprochen.

In einer 1. Serie wurden die Tiere, bis auf einen 1,5 cm² großen Ausschnitt über der Rückenhaut, mit 2 mm Bleigummi abgedeckt. In der 2. Serie (106 Tiere) wurden sie ungeschützt bestrahlt. Nur bei der 1. Serie wurden die Strahlen gefiltert (0,5 mm Zink + 3 mm Aluminium). Apparatur: Veifa, Coolidgeröhre, 61 K. V., F. H. A. = 25 cm, F. Str. 20 cm.

Die Bestrahlungen erfolgten bei der 1. Serie an 3 aufeinander folgenden Tagen (je 5' bzw. je 10'), in der 2. Serie wurde *nur einmal bestrahlt*, und zwar je 5', 10', 30', 60', 120', 240'. Die Tiere wurden je 5', 6 Stunden, 24 Stunden und 5 Tage nach der Bestrahlung getötet und die Gewebe sofort fixiert. Gefärbt wurde mit Resorcinfuchsin und mit Orcein.

Resultat: Im Epithel fand sich in keinem Fall — auch nicht bei 240' langer Bestrahlung und wenn nach dieser die Tiere noch 5 Tage leben blieben — eine Totalnekrose. Beobachtet wurde an ihm eine mäßige Auflockerung des Zellverbandes mit blasiger Quellung des Protoplasmas und vor allem der Kerne, deren Chromatin meist unregelmäßig verklumpt erscheint. Pigmentanhäufungen am proximalen Kernpol fehlten (bei der weißen Maus).

Die Grundsubstanz und das geformte Bindegewebe im Stratum papillare erscheinen aufgelockert, hyalin gequollen. In der Subcutis besteht in allen Fällen ein mittelstarkes diffuses Ödem. Die Mastzellen sind quantitativ vermehrt, die elastischen Fasern haben besonders in den proximalen Partien des Stratum papillare stark zugenommen und bilden hier dichte, engmaschige Netze.

Ob weiche oder harte Strahlen verwandt wurden und ob die Tiere mit oder ohne Bleischutz bestrahlt wurden, hatte, unter den mitgeteilten Bedingungen, offenbar keinen wesentlichen Einfluß auf das Endresultat: die qualitativen und quantitativen Veränderungen am Epithel und am Bindegewebe. Diese Veränderungen sind dabei formal dieselben wie die nach Arsen und im 1. Stadium der Teerwirkung, sie unterscheiden sich von ihnen aber dadurch wesentlich, daß sie *im Laufe weniger Minuten auftreten* (Abb. 8—9), während die anderen im Laufe von Monaten zu stande kommen. Diese Beobachtung war anfangs gänzlich überraschend, und besonders läßt sie sich nicht vom Standpunkt der Definiertheit und Unabänderlichkeit protoplasmatischer Formationen verstehen. Sie ist nun offenbar von großer Bedeutung für die Auffassung der biologischen Vorgänge bei der Bindegewebsreaktion.

Einmalige Bestrahlungen bis zu 5' machen nach unseren Beobachtungen keine wesentlichen Veränderungen im Bindegewebe, einerlei ob die Tiere danach wenige Minuten, Stunden oder bis zu 5 Tagen leben. Nach Bestrahlung von 10' und mehr treten nun die eben beschriebenen Veränderungen im Bindegewebe auf, und zwar scheint es, nach unseren Beobachtungen, daß die Reaktionsbedingungen mit einer Energie-

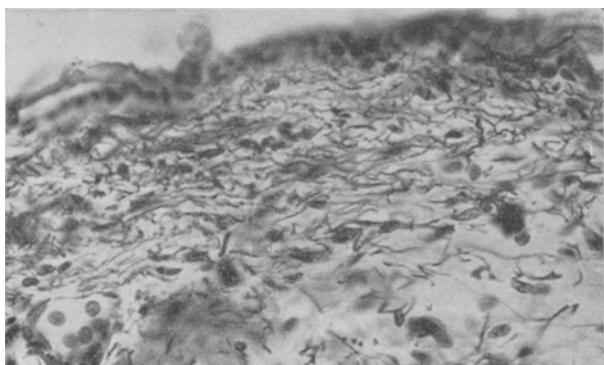


Abb. 8. Zunahme der elastischen Fasern nach 10' langer Röntgenbestrahlung. Getötet 5' nach beendeter Bestrahlung.

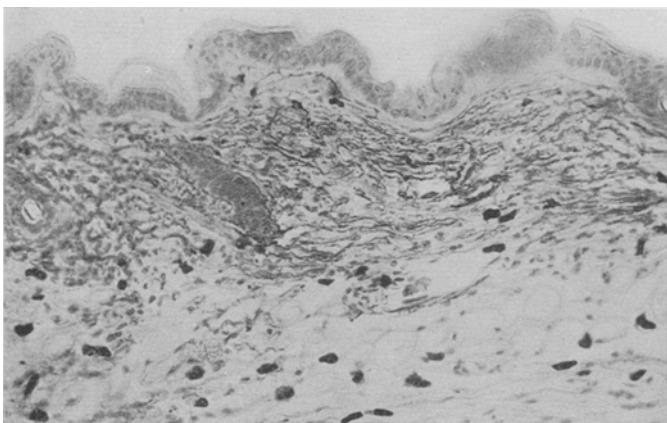


Abb. 9. Zunahme der elastischen Fasern nach 30' langer Röntgenbestrahlung. Getötet 6 Stunden nach beendeter Bestrahlung.

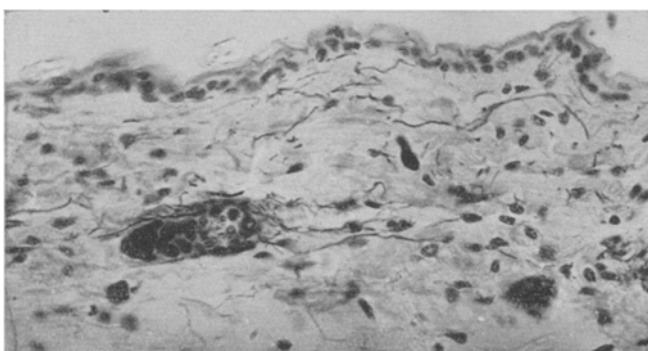


Abb. 10. Spärliche elastische Fasern und Mastzellen, Auflöckerung der Bindegewebsfasern (Quellung) nach 240' langer Bestrahlung und Tötung 5' nach beendeter Bestrahlung.

zufuhr entsprechend einer 10' langen Bestrahlung gegeben sind. Oberhalb dieser Grenze — also durch einmalige Bestrahlung von 30', 60', 120', tritt keine erhebliche quantitative Zunahme der Reaktionsprodukte ein, und bei 240' langer Bestrahlung ist die formale Veränderung im Bindegewebe anfangs sogar deutlich herabgesetzt (Abb. 10). Einen großen Einfluß hat es offenbar, wie lange das Tier nach der Bestrahlung gelebt hat. Bei den relativ kurzfristigen Bestrahlungen läßt sich ein formaler Unterschied der Reaktion nicht nachweisen: die Auflöckerung und Quellung des Bindegewebes hat auch 5 Tage nach der Bestrahlung nicht abgenommen, das subcutane Ödem ist unverändert und die geformten Elemente —

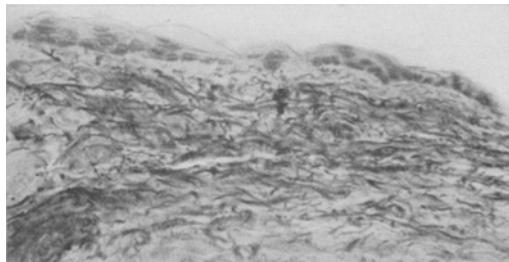


Abb. 11. Gleiche quantitative Zunahme der elastischen Fasern nach 10' langer Röntgenbestrahlung, aber Tötung 24 Stunden nach beendeter Bestrahlung.

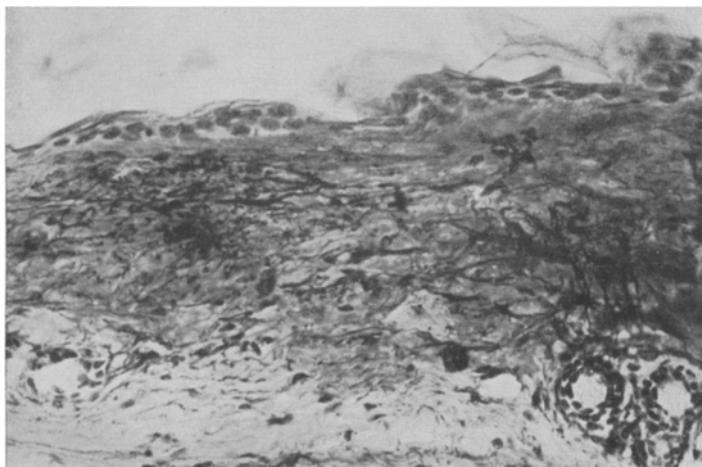


Abb. 12. Starke Zunahme der elastischen Fasern (wie bei kurzfristiger Bestrahlung) nach 240' langer Bestrahlung und Tötung nach 4 Tagen. Vgl. Abb. 10.

die Mastzellen und elastischen Fasern — sind scheinbar quantitativ dieselben wie 5', 6 Stunden und 24 Stunden nach der Bestrahlung (Abb. 11). Nach 240' langer Bestrahlung sind aber die reaktiven Prozesse durchweg gering und passive Schädigungen des Bindegewebes überwiegen im Laufe der ersten 24 Stunden. Die elastischen Fasern und Mastzellen sind spärlich und das ganze Gewebe ist stärker aufgelockert

und gequollen. Nach 24 Stunden bzw. 4 Tagen (Abb. 12) ist dagegen wieder derselbe Zustand wie nach kurzfristiger Bestrahlung erreicht.

Es erscheint ausgeschlossen, daß sich unter 10' langer Bestrahlung die elastischen Fasern neu gebildet haben, sondern unsere Beobachtungen sprechen in ihrer Gesamtheit dafür, daß primär eine allgemeine Zustandsänderung im Bindegewebe eintritt und mit dieser muß das „Auftreten“ der elastischen Fasern zusammenhängen. Wir können in der Verallgemeinerung der Befunde noch einen Schritt weitergehen und annehmen, daß die formalen Veränderungen nach Arsen und Teer offenbar auf dieselben gesetzmäßigen Zustandsänderungen zurückgehen wie die nach Wirkung der Strahlenenergie und daß sich beide Gruppen nur unterscheiden durch die Schnelligkeit des Reaktionsablaufes, die abhängig sein dürfte von der pro Oberflächeneinheit zugeführten Intensität.

Bei der Mitteilung meiner Untersuchungen über die embryonale und postembryonale Histogenese¹⁾ wurde auf die grundlegenden Arbeiten Heidenhains²⁾, Gurwitschs³⁾, Meves⁴⁾, Rankes⁵⁾, Huecks⁶⁾ und anderer Autoren hingewiesen. Das Bindegewebe geht nach diesen hervor aus den feinen protoplasmatischen Zellfortsätzen, die ursprünglich beide embryonalen Keimblätter netzartig miteinander verbinden. In dieses Netzwerk wandern spärliche Kerne aus den Keimblättern ein und von seinen Fasern werden, in die mit Gewebssaft erfüllten Poren des schwammartigen Gerüstes, anscheinend dauernd Produkte abgeschieden. Man kann sich diesen Prozeß als Oberflächenbildung in einem zweiphasigen System vorstellen, die zu immer neuen schichtweisen Abscheidungen führt und schließlich die Maschenräume so weit füllt, daß das Netzwerk nur als feines Gerüst mit spärlichen Kernen in sie „eingelagert“ erscheint. Diese Oberflächenverdichtungen können nun unter bestimmten physikalischen und chemischen Bedingungen weiter differenziert werden, können sekundär mit Elastin oder Kollagen „imprägniert“ werden, und auf diesem Wege kommt es zur Bildung der elastischen und kollagenen Fasern.

Auf Grund unserer experimentellen Untersuchungen läßt sich diese Auffassung direkt bestätigen. Und zwar sowohl die „Imprägnierung“ „indifferenter“ Fasern mit Elastin bei der Röntgenstrahleneinwirkung wie der umgekehrte Vorgang der „Desimprägnierung“ der elastischen Fasern im Carcinomgewebe. Über die Bedingungen, die zur „Imprägnierung“ führen, geben uns weitere Aufschlüsse die neueren Unter-

¹⁾ R. Bierich, Zeitschr. f. Krebsforsch. **18**, 3. 1921.

²⁾ Heidenhain, Plasma und Zelle. Jena 1907/11.

³⁾ A. Gurwitsch, Allgemeine Histologie. Jena 1913.

⁴⁾ F. Meves, Arch. f. mikrosk. Anat. **75**. 1910.

⁵⁾ O. Ranke, Sitzungsber. d. Heidelb. Akad. 1913, H. 3; 1914, H. 2.

⁶⁾ W. Hueck, Zieglers Beiträge **66**.

suchungen über die Wirkungsweise der Röntgenstrahlen. Wir wissen, daß durch Röntgenstrahlen die Protoplasmakolloide abgebaut werden. Die dabei auftretenden niederen Bausteine müssen einerseits neue Reaktionsbedingungen im Gewebe schaffen und andererseits muß in den abgebauten Protoplasmakolloiden eine Veränderung ihres physikalischen und chemischen Zustands eintreten. Es treten nun diese Veränderungen unter Arsen- und Teerwirkung relativ langsam, unter der Strahleneinwirkung in wenigen Minuten ein und dabei werden die „indifferenteren“ Fasern des Bindegewebes „imprägnationsreif“. Sobald dieser Zustand eingetreten ist, wird das offenbar ständig zirkulierende Elastin an den Oberflächen der Fasern niedergeschlagen. Aus dieser Auffassung erklärt sich auch die Beobachtung, daß das übrige Bindegewebe — die kollagenen Fasern und die Grundsubstanz — nicht, wie bei der Elastinfärbung normaler Gewebe, fast völlig ungefärbt erscheint, sondern meist diffus im selben Ton — nur in schwächerer Nuance wie die elastischen Fasern — gefärbt wird. *Offenbar wird das Elastin nicht nur unter den Bedingungen der Krebsbildung, sondern auch bei allen anderen Prozessen im Körper, dort niedergeschlagen, wo die „physiologische“ Struktur der Protoplasmakolloide zu bestimmten „imprägnationsreifen“ Bausteinen abgebaut ist.* Auf eine primäre Milieuänderung geht scheinbar auch das Einwandern der Mastzellen in das Bindegewebe bei Arsen, Röntgen- und Teerwirkung zurück.

Unter Zugrundelegung dieser Befunde haben wir nun eine scheinbar einheitliche allgemeine Vorstellung von der Wirkungsweise der von außen zugeführten gewebsfremden Faktoren gewonnen. Es wird zu untersuchen sein, wie weit diese Befunde sich zum Verständnis der Geschwulstbildung heranziehen lassen. Zur Verfügung standen mir hierzu Teerkrebse der weißen Maus, Spiropterakrebs des Rattenmagens, menschlicher Röntgenkrebs (Handrücken¹⁾) und von demselben Falle die schwer veränderte Haut der Oberextremität.

Die menschlichen Krebse¹⁾ sind nach jahrelanger kontinuierlicher Einwirkung von Röntgenstrahlen auf die Haut zustande gekommen und entsprechen in ihren Entstehungsbedingungen (chronische Zufuhr physikalisch-chemisch wirksamer Energien) damit im wesentlichen den von uns angewandten experimentellen Methoden.

In der normalen Haut (Abb. 13) bilden die elastischen Fasern weitmaschige, im wesentlichen parallel zur Oberfläche des Papillarkörpers gelagerte Netze aus ziemlich gleichkalibrigen, mittelstarken, sich besenreisartig spärlich verästelnden, wenig gewellten Fasern. Diese hängen distalwärts mit gleichstarken Netzen zusammen. Im Stratum papillare (weiße Maus) liegen etwa 10 solcher Netze übereinander, die in den

¹⁾ Ich verdanke die 2 Fälle Herrn Prof. Sick, Chirurgische Universitätsklinik, und Herrn Prof. Simmonds, Pathol. Institut, Krankenhaus St. Georg, Hamburg.

tieferen Partien weitmaschiger werden und, ziemlich gleichmäßig verteilt, bis auf die Muscularis cutis herabreichen. Die dichtesten Faser netze und breitesten und am intensivsten sich färbenden Fasern liegen in direkter Umgebung der Haarbälge und in der Wand der Blut capillaren; direkt unter der Epidermis sind die Netzmaschen äußerst

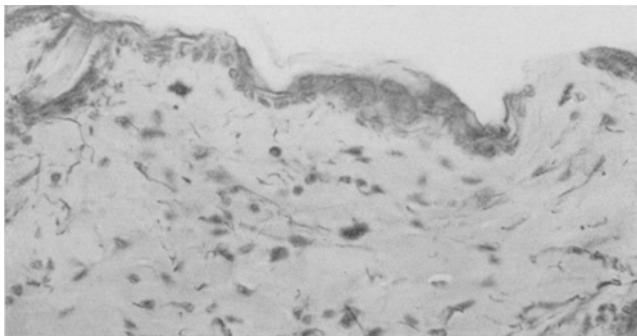


Abb. 13. Normale Haut. Spärliche elastische Fasern und Mastzellen.

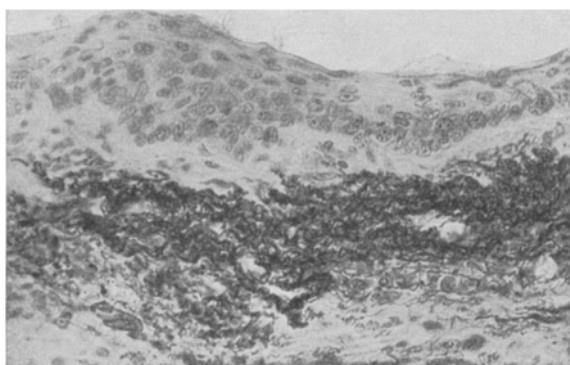


Abb. 14. Starke Zunahme der elastischen Fasern im subepithelialen Bindegewebe vor Einwuchern des Epithels der Bindegewebe.

eng und die Fasern haben ein besonders feines Kaliber (Membrana terminans).

Die Mastzellen sind hier äußerst spärlich, die normale Grundsubstanz zwischen den Fasern bleibt bei der Resorcinfuchsinfärbung ungefärbt.

Vergleicht man mit diesem „normalen“ Befund das Verhalten der elastischen Fasern bei Teer-, Nematoden- und Röntgenkrebs, so lassen sich folgende 2 Befunde erheben:

A. *Die elastischen Fasern sind stark vermehrt, solange das Epithel noch nicht in das Bindegewebe eingewuchert ist (Abb. 14).*

B. Die elastischen Fasern sind bei demselben Tier äußerst spärlich und fehlen schließlich im angrenzenden Bindegewebe völlig, wo das Epithel ins Bindegewebe vorgedrungen ist und sich hier ausgebreitet hat (Abb. 15, 16).

Hat man mit der gewöhnlichen Hämatoxylineosinfärbung oder den anderen für die Bindegewebssstruktur nicht „spezifischen“ Färbemethoden das eine Mal festgestellt, daß noch keine Krebsentwicklung, das andere Mal, daß beginnende oder weiter vorgeschrittene Krebsentwickelung besteht, so kann man (speziell bei den von uns untersuchten Teerkrebsen) schon a priori das quantitative Verhalten der elastischen Fasern und der Mastzellen angeben. Andererseits kann mit der gleichen Sicherheit aus dem Reichtum oder der Armut des Gewebes an diesen Elementen vorausgesagt werden, ob in dem betreffenden Bezirk sich ein Krebs entwickelt hat oder nicht.

Es ist anzunehmen, daß die Auflösung der Elastinbindung vom Krebsgewebe besorgt wird, während das Kollagen, das bei der Malloryfärbung in keiner Weise verändert erscheint, widerstandsfähiger sein muß. In welcher Weise bei weiterer Ausbreitung der Geschwulst die Bindung des Elastins aufgehoben wird, wissen wir nicht. Bemerkenswert erscheint, daß in diesem Stadium der „Desimprägnierung“ der elastischen Fasern offenbar neue Zustandsänderungen im Bindegewebe eintreten, die von denen im Stadium der „Imprägnierung“ verschieden sein müssen. Das Bindegewebe ist nunmehr zellarm, färbt sich mit Resorcin nur schwach oder gar nicht; das kollagene Gewebe zeigt großwellig geschlängelte Fasern, die oft in einzelne schmälere Bündel aufgeteilt sind, und die elastischen Fasern erscheinen anfangs entweder zu großen unregelmäßigen Knäueln zusammengerollt oder werden allmählich immer feinkalibriger — bei noch erhaltener Resorcinfärbbarkeit, — oder sind — schließlich — in kleine an den Enden abgerundete Teile (1 : 1 bis 1 : 10) aufgeteilt. Dies Verhalten läßt sich beobachten sowohl beim Teer- wie beim Röntgenkrebs.

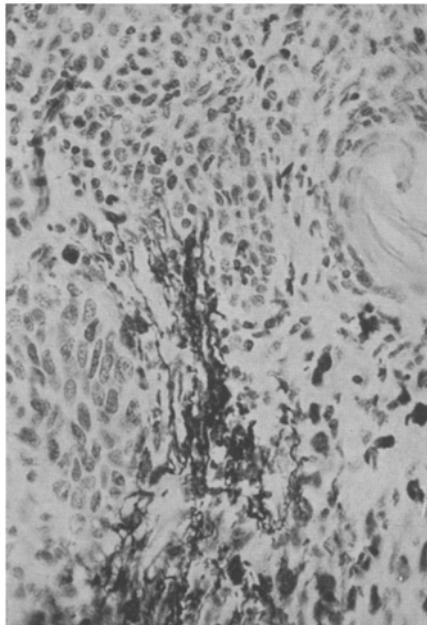


Abb. 15. Fehlen der elastischen Fasern im Krebsgewebe. Zunahme der elastischen Fasern an der Grenze zwischen Krebs u. krebsfreiem Bindegewebe.

Man kann also sowohl unter der Teerwirkung, wie unter der Arsen- und der Röntgenwirkung zwei Stadien der Gewebsveränderung beobachten, die zwar kontinuierlich ineinander übergehen, aber nicht auf eine gemeinsame Bedingung zurückführbar sind.

Im ersten Stadium kommt es unter Teer- und Röntgenwirkung zu einer Steigerung bestimmter Epithelfunktionen, die formal als pathologisches Höhenwachstum erscheint. Es ist nach den Angaben der Literatur zu erwarten, daß dieser Effekt auch durch Arsen — bei längerer

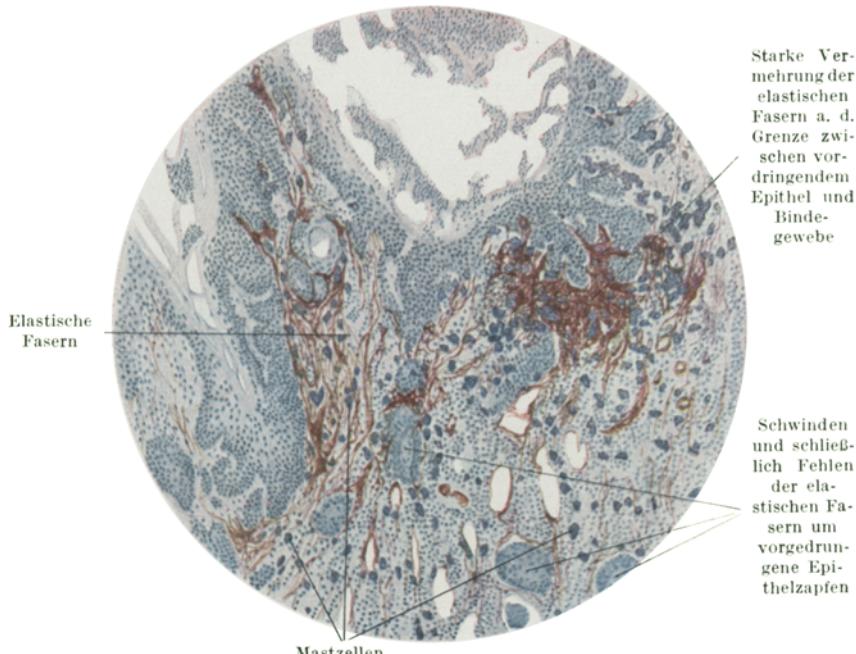


Abb. 16.

Einwirkung — zu erzielen sein wird. Auf die physikalisch-chemischen Vorgänge, die dem gesteigerten Wachstum des Epithels offenbar zugrunde liegen, kann hier nicht eingegangen werden.

Die Bindegewebefunktionen sind in diesem ersten Stadium in dem Sinn verändert, daß seine geformten Elemente — besonders die direkt ans Epithel grenzenden — quantitativ stark vermehrt werden. Dieser Prozeß läßt sich als Symptom einer physikalisch-chemischen Zustandsänderung der Gewebe auffassen, die im Epithel und im Bindegewebe von demselben Faktor hervorgerufen wird und nur, abhängig von deren verschiedener „Struktur“, formal verschieden auftritt.

Im zweiten Stadium, in dem der Krebs sich im Bindegewebe ausbreitet, treten hier im wesentlichen diametrale Vorgänge eines Abbaus des

bisher erreichten auf. Die elastischen Fasern schwinden allmählich — bis auf die Wandnetze der Gefäße — ganz, nach ihnen schwinden die Mastzellen und die übrigen Bindegewebszellen werden äußerst spärlich. Die Bindegewebsfasern sind entweder stark geschlängelt und meist in plumpe Zylinder mit stumpfen Endflächen zerteilt. Die Grundsubstanz zeigt anfänglich noch — ebenso wie im Beginn des ersten Stadiums — eine diffuse graublaue Resorcinfärbung, schließlich schwindet auch diese.

Der Reaktionsvorgang am Bindegewebe besteht danach offenbar im ersten Stadium in einer bestimmten physikalisch-chemischen Zustandsänderung seines ganzen protoplasmatischen Systems. Unter den neuen — von der Norm stark abweichenden Milieubedingungen — treten in ihm Mast auf und an den veränderten Grenzflächen der „indifferenten“ Fasern wird das zirkulierende Elastin niedergeschlagen.

Im zweiten Stadium wird dies Milieu durch den Krebs verändert und hierbei Grundsubstanz und Fasern erhalten eine offenbar andere physikalisch-chemische Struktur. In folgedessen wandern die Bindegewebszellen wieder ab und die „Bindung“ des Elastins wird gelöst.

Wir konnten feststellen, daß unter Einwirkung von Teer und Röntgenstrahlen — sowie bis zu einem bestimmten Grade vom Arsen — im Epithel und im Bindegewebe Veränderungen auftreten, die als Zustandsänderung des ganzen Systems aufzufassen sind. Die eintretenden Reaktionen verlaufen offenbar gesetzmäßig, und als Produkt der Reaktion erhalten wir eine chemisch und physikalisch abgeänderte Struktur des Epithels und des Bindegewebes. Die Funktionen dieser in ihrer „Struktur“ abgeänderten kolloidalen Systeme sind damit „pathologisch“ geworden, und von den beiden Nachbarn zeigt dabei das Epithel die neuen Eigenschaften in einer erhöhten Wachstumsenergie (Tiefenwachstum), das Bindegewebe in einem erhöhten „Widerstand“ gegen das vordringende Epithel. Diese zwei biologischen Prozesse können sich eine zeitlang die Wage halten, wie wir es bei beginnender Krebsbildung oder bei der gleichzeitigen Wirkung von Teer und Arsen beobachtet haben. Schließlich aber überwiegt der eine oder der andere, und damit ist das Schicksal des ganzen Prozesses endgültig bestimmt.